Aus dem Frauenspital Basel, Direktor: Prof. Dr. Th. Koller
Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Basel,
Vorsteher: Prof. Dr. S. Edlbacher
Arbeit unter Leitung von PD. Dr. R. Wenner, I. Oberarzt des Frauenspitals

Zur Frage der Diamin-Oxydase-Vermehrung in der Schwangerschaft und deren diagnostischen Verwendung

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung
der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von

PETER MUNDWYLER
Arzt
von Basel

1945

Verlag von S. KARGER in Basel

Von der Medizinischen Fakultät Basel
genehmigt auf Antrag von Prof. Th Koller.
Tag der Promotion: 22. 12. 1943.

Die vorliegende verkürzte Fassung der Dissertation wurde von der medizinischen Fakultät Basel angenommen am 19. Dezember 1944.

Sonderdruck aus „Monatsschrift für Geburtshilfe und Gynäkologie“
Vol. 119, No. 2/3

Meinen Eltern gewidmet

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

1. Einleitung.

Über biologisch-chemische Schwangerschaftsreaktionen.

In der Praxis wird man häufig von Frauen und Mädchen gefragt, ob eine Schwangerschaft vorliege, und manchmal wird man vom Bestehen einer solchen überrascht, wo man es nicht erwartet hätte.

Die Symptome einer bestehenden Gravidität sind verschieden, je nachdem es sich um ein Spät- oder Frühstadium handelt.

Bei einer unkomplizierten *Schwangerschaft* in *vorgerücktem Stadium* kommen die sogenannten *sicheren Schwangerschaftszeichen* in Frage, die vom Kinde ausgehen: Nachweis von Kindesteilen, kindlichen Herztönen (*Sarwey*[24], [25]), Kindesbewegungen, Röntgenbild.

Für die *Frühdiagnose* besteht ein mannigfaltiges Bedürfnis, sowohl in differenzialdiagnostischer, als auch prognostischer Beziehung[16]. Diese Diagnose wird gestellt bei *Untersuchung der Frau* durch den Nachweis der *wahrscheinlichen* und *unsicheren Schwangerschaftszeichen:* Ausbleiben der Menses, Vergrößerung des Uterus, Zeichen von *Hegar, Piskaczek, Ahlfeld, Labhardt*[18]. Daneben gibt es aber auch *biologische und chemische Zeichen der Frühzeit.* Diese beruhen auf dem besonderen Chemismus und der veränderten Biologie des graviden Organismus. An Methoden gibt es deren viele. Zur Untersuchung gelangt vor allem der *Harn,* dann das *Blut*

und *Serum* der betreffenden Frau. Ersteren ließ man auf alle möglichen Pflanzen und Tiere einwirken und versuchte so irgendwie für die Schwangerschaft spezifische Zeichen zu erkennen. Schon aus der Zeit des Altertums *(Papyrus Ebers* und *Berolinensis* [4, 5, 17]) und des Mittelalters *(Scoti, Rueff* [22, 26]*)* sind uns solche Untersuchungen bekannt.

In *neuerer Zeit* wurden nun eine Reihe wichtiger Methoden gefunden. *Abderhalden* brachte mit seiner Schutzfermentshypothese die Frage der *biologischen Schwangerschaftsdiagnose* 1911 in Fluß [1]. Einige wenige der Reaktionen weisen einen ansehnlichen Prozentsatz richtiger Resultate auf, einige haben nur theoretisches Interesse, die meisten aber sind willkürlich und wertlos.

Die heute wichtigste biologische Schwangerschaftsprobe stellt die *Aschheim-Zondek-Reaktion (AZR)* dar, welche auf dem Nachweis von gonadotropem Chorionhormon im Urin der Schwangeren beruht [4]. Letzterer wird juvenilen, weiblichen Mäusen injiziert. Da es sich bei der AZR um die am meisten ausgeführte und wohl bekannteste Reaktion handelt, erübrigt sich deren Beschreibung.

Sie weist einige *Vorzüge* auf: abgesehen von Fällen von Blasenmole und Chorionepitheliom ist sie spezifisch für die Gravidität, und die unanfechtbare Sicherheit beträgt nach Angabe der Autoren 98 %. (An der Basler Klinik nach *Labhardt* sogar 99,75 % bei 16 000 ausgeführten Reaktionen [19].) Andererseits bestehen auch einige *Nachteile:* Sichere Resultate erst 10 Tage nach Ausbleiben der Menses, Negativwerden der Reaktion oft erst 2—3 Wochen nach Absterben oder Ausstoßung des Eies, 3—4 Tage Dauer bis das Resultat erhältlich ist, sowie hohe Kosten (Labor, Tiere, Zeit).

Um schnellere Resultate zu ermöglichen wurden verschiedene *Modifikationen* der Originalmethode (Äther-Zuckerbehandlung des Urins, Alkoholfällungsmethode u. a. [4]) angegeben, andererseits werden statt der jungen Mäuseweibchen andere Testtiere verwendet, so Kaninchen (*Friedmann* [4, 32]), männliche Maus *(Brouha* [32]*)*, weibliche Ratte *(Reiprich* [32]*)* und der Klauenfrosch (*Hogben* [32]).

Andere Autoren stellten ihre Reaktionen direkt am Körper der Schwangeren an: Allergietest (*Gillfillen* und *Gregg* [32]), Pupillenreaktion (*Berkowitz* [32]), Hautreaktion (*Engelhorn* und *Wintz* [23]). Noch sehr umstritten ist der Schwangerschaftstest nach *Soskin-Wachtel-Hechter* [27, 7a] mittels Prostigmin.

Die *rein chemischen Schwangerschaftsreaktionen* erlauben unabhängig vom Tierversuch und öfters rascher die Dia-

gnose zu stellen, indem bestimmte Stoffe im Blutserum oder Urin nachgewiesen werden: *Reagenzglasverfahren.*

Die wichtigste stellt die Methode von *Abderhalden* dar; sie weist Fermente nach, welche im mütterlichen Organismus gegen das Placentareiweiß gebildet werden[1, 8]. Die Reaktion ist gerade so wenig spezifisch wie auch die vielen anderen Proben, die im Schwangerenblut Serumeisen (*Albers*[2, 3]) und andere Stoffe bestimmen wollen, oder welche im Schwangerenharn die Zuckerausscheidung infolge der verminderten Kohlehydrattoleranz (*Frank-Nothmann*[4], *Kamnitzer* und *Joseph*[23], *Roubitschek*[7]), Ausscheidung von Prolan (*Eisner*[32], *Visscher-Bowman,* vgl. [6] und [11]), Follikulin (*Kuboni*[32], *Hasselstamm* und *Kahlert*[32]) zur Diagnosenstellung auf Schwangerschaft verwenden.

Eine dritte Gruppe von biologisch-chemischen Reaktionen befaßt sich mit der Umstellung des ganzen Stoffwechsels, besonders des *Basenstoffwechsels* während der Schwangerschaft. Die Reaktion nach *Kapeller-Adler*[13, 29] liefert keine eindeutigen Resultate[30, 32]. *Werle* und *Effkemann* benützen die Tatsache der vermehrten Histaminabbaufähigkeit des Schwangerenblutes zur Ausarbeitung einer neuen Methode der Schwangerschaftsdiagnose[33, 53].

Diese Erscheinung beruht auf dem erhöhten Bluthistaminasespiegel während der Gravidität, was schon sehr früh, frühestens 14 Tage nach Ausbleiben der Periode der Fall sein soll. Sie ermittelten am atropinisierten Meerschweinchendarm den Rest des dem Blut, bzw. Serum in vitro zugesetzten Histamins, der nach der Inkubation, d. h. Einwirkung noch übriggeblieben war.

1940 berichtete *E. A. Zeller* über eine neue *„In vitro-Schwangerschaftsreaktion“*[45].

In der vorliegenden Arbeit sollen nun einige neuere diesbezügliche Ergebnisse aus eigenen Versuchen mitgeteilt werden.

II. Die Zeller'sche Diamin-Oxydase-Reaktion (DOR).

Allgemeines über die Diamin-Oxydase (DO).

Bei Forschungen über den enzymatischen Abbau von Polypeptiden, speziell der Diamine Histamin und Cadaverin fand *Zeller,* daß *Indigodisulfonat* (ein Farbstoff) — im folgenden kurz „Indigo“ genannt — durch fermentative Prozesse entfärbt wird.

Das *Ferment* heißt *Diamin-Oxydase* (DO), eine allgemeine Bezeichnung. Es baut nicht nur in vitro, sondern auch in vivo neben Histamin noch andere mehrwertige Basen ab[45].

Im *Serum der Schwangeren* ist diese DO gegenüber der Norm bis zu *50fach vermehrt*. Diese Tatsache benützt Zeller zum Nachweis einer bestehenden Gravidität.

Charakteristik der DO:

Sie ist *identisch* mit der von *Best* entdeckten *Histaminase,* welche Histamin enzymatisch abbaut[45]. Zudem baut sie im tierischen Organismus vorkommende *Körper* mit mindestens *zwei basischen Gruppen,* wie Histamin, Putrescin, Cadaverin, Spermin u. a. *oxydativ* ab[40, 42, 52].

Vorkommen: Im *Blut* von *Schwangeren,* welches eine erhöhte Inaktivierungsfähigkeit für Histamin besitzt (*Marcou*[20, 53]). Ebenfalls reichlicher Gehalt des Fermentes in der *Placenta* (*Zeller u.* M.[38]). Das menschliche *Sperma* weist einen etwa 100mal höheren Gehalt an DO auf als das gleiche Volum Serum (*Zeller*[49], *Joël*[12]). Daneben läßt sich das Ferment in der Niere, Leber und Darmschleimhaut der meisten Säuger nachweisen[39].

Methodik der Diamin-Oxydase-Bestimmung.

Es soll im folgenden nur das *Prinzip* der *rein chemisch-physikalischen Schwangerschaftsreaktion* beschrieben werden. (Über Einzelheiten vgl. Kapitel „Eigene Versuche".)

Das entsprechend vorbehandelte, zu untersuchende Serum läßt man auf ein Diamin — also z. B. Cadaverin — in vitro einwirken[45]. Das Wesentliche beim Diaminabbau ist eine Dehydrierung des Diamins, wobei Wasserstoff wahrscheinlich auf eine Flavingruppe übertragen wird. Diese wird dabei in das Dihydro-Flavin übergeführt. Die meisten dieser Flavine sind autoxydabel und reagieren mit Sauerstoff unter Bildung von Peroxyd, welches leicht nachweisbar ist. Man kann es für die quantitative Bestimmung der DO heranziehen, weil es einen zugefügten Farbstoff oxydativ entfärbt[21].

Die Reaktion verläuft nach folgenden Gleichungen:

a) $R \cdot CH_2 \cdot NH_2 + \text{Flavin (Fl)} = R \cdot CH : NH + FlH_2$

b) $FlH_2 + O_2 = Fl + H_2O_2$

Da aber daneben noch Ammoniak entsteht, und dieser für die Bestimmung der DO ebenfalls wichtig ist, und um eine bessere Übersicht über die quantitativen Beziehungen zu erhalten, können wir den ganzen Prozeß formelmäßig vereinfacht wie folgt darstellen:

c) $\underset{(I)}{R \cdot CH_2 \cdot NH_2} + O_2 + H_2O = \underset{(II)}{R \cdot CHO} + \underset{(III)}{NH_3} + H_2O_2$

Es folgt aus Gleichung (c), daß bei erhöhtem DO-Gehalt des Serums, also während der Schwangerschaft, beim Zusatz von Cadaverin (= Diamin) der O_2-Verbrauch (I) und die Entstehung von NH_3 (II) und H_2O_2 (III) gegenüber der Norm vergrößert sind.

Aus der umgesetzten Menge O_2, NH_3 oder H_2O_2 können wir einen Schluß auf die qualitativen und quantitativen Veränderungen der Reaktion ziehen. Da *nur* im Serum bei *intakter Gravidität* deutlich meßbare Zahlen als Zeichen der *vermehrten DO* erhalten werden, kann diese Tatsache zur *Schwangerschaftsdiagnose* verwendet werden.

Mittels dreier Methoden gelingt es die DO zu messen.

Methode I: Messung des *verbrauchten Sauerstoffes* mit Hilfe des *Warburg'schen Manometers.*

Benötigt werden 10 ccm Blut. Positive Reaktion, also vorliegende Schwangerschaft, wenn der Sauerstoffverbrauch größer als 10 cmm ist (durchschnittlich 24—122 cmm), negative Reaktion bei geringerem Sauerstoffverbrauch.

Methode II: Der *gebildete Ammoniak* wird destilliert (nach *Parnass, Convay* oder *Zeller*) und mit Neßler'schem Reagens umgesetzt [46, 51].

Die entstehende Farbe wird im *Stufenphotometer* gemessen, und aus der Lichtdurchlässigkeit auf die Menge Stickstoff pro ccm (N/ccm) in γ geschlossen. Diese Methode benötigt sehr wenig Serum (0,4—2 ccm). Durchschnittswerte für Schwangere: 1 γ N/ccm Lösung, Nichschwangere: weniger als 0,1 γ N/ccm.

Methode III: Erfassung des beim Abbau von Cadaverin *entstehenden Wasserstoffsuperoxyds* mit Hilfe einer neuartigen Reaktion nach *Zeller,* in deren Verlauf *„Indigo"* (s. oben) entfärbt wird [43, 54].

Das Verschwinden des Farbstoffes kann von bloßem Auge (qualitativ) und stufenphotometrisch (quantitativ) verfolgt werden.

Beurteilung der Resultate:

Qualitativ: Entfärbung bei positiver Reaktion (also Gravidität), keine Entfärbung bei negativer Reaktion (also keine Gravidität).

Quantitativ: Hier wird die Extinktion eines Reaktionsgemisches bestehend aus Serum + Cadaverin + Indigo mit derjenigen eines Gemisches ohne Cadaverin, also ohne Substrat für die DO in Beziehung gebracht, und die Werte in Prozenten ausgedrückt. (Einzelheiten siehe weiter unten.)

Gegenüberstellung der drei Methoden I, II und III [54].

Alle drei Methoden zeigen größenordnungsweise die gleichen Resultate [19, 34, 45, 54]. Sie sind also *gleichwertig,* nur unterscheiden sie sich durch ihre Empfindlichkeit, welche am größten für die II. und am geringsten für die III. ist.

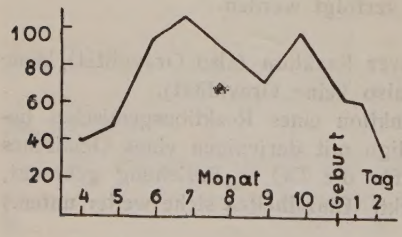
III. Bisherige Ergebnisse der Literatur.

In folgender Tabelle wurden die von *Zeller*[45, 51, 54] und später von *Labhardt*[19] veröffentlichten Resultate zusammengestellt.

Diagnose	Zahl der untersucht. Seren	Resultat der DOR richtig	falsch	Richtigkeit der Resultate in %
Nichtschwangere; gynaekol. Kranke; Pat. der mediz. Klinik (♂ + ♀)	70	70	0	100
Schwangere ab 3. Monat				
Gebärende Wöchnerinnen 1.-5. Tag *	118	118	0	100
Frühschwangere bis 12. Woche	19	6	13	31
Aborte jenseits 10. Woche	6	6	0	100
Aborte bis 10. Woche	4	0	4	0
Tubargrav. 22. Woche	2	2	0	100
Tubargrav. 2.—8. Woche	5	0	5	0

Sämtliche Seren, die von sicher schwangeren (jenseits 10.—12. Woche) oder gynäkologisch kranken Frauen, sowie teilweise von Männern stammen, zeigen alle eine *Übereinstimmung* der *Zeller*'schen *Diamin-Oxydase-Reaktion* mit der *klinischen Diagnose:* also eine *Richtigkeit von 100* %. Keine eindeutigen Resultate wurden bei Frühschwangerschaften gefunden.

Wenner und *v. Wattenwyl*[34] stellten die bei der DO-Bestimmung im Serum gefundenen Werte während der Gravidität, Geburt und Wochenbett *kurvenmäßig* dar:



Kurve 1:
O_2-Verbrauch in cmm.

Sie fanden dabei eine Zunahme der DO vom 4. Monate an. Zwei Maxima im 7. bzw. 10. Monate schließen eine deutliche Abflachung der Kurve ein. Kurz ante partum ist ein steiler Abfall festzustellen. Ihre Kurve

* Am 6. Tage war die DOR teils positiv, teils schon negativ, am 7. Tage hingegen immer negativ.

stellt eine Kombination dar aus Werten von verschiedenen Frauen: dabei fanden sich sehr starke Schwankungen der Werte für ein und denselben Zeitpunkt der Gravidität, was sicher auf ein individuelles Moment schließen läßt.

Es sei in diesem Zusammenhange noch auf die Mitteilung von *Robert* und *Zeller* verwiesen, die in ihren Untersuchungen über Pigmentbildung und Diaminstoffwechsel beim Chloasma eine gegenüber der Norm erhöhte, und bei Vitiligo eine verminderte DO-Menge fanden [21].

Fassen wir die *Ergebnisse* der bis jetzt vorliegenden *Veröffentlichungen* zusammen, so finden wir:

1. Eindeutige Möglichkeit des Schwangerschaftsnachweises mittels der DOR jenseits der 12. Woche.

2. Unzuverlässige Resultate in den ersten drei Graviditätsmonaten.

3. Es ist kein Fall bekannt, wo eine Schwangere jenseits der 12. Woche ein negatives Resultat aufwies, oder wo bei irgendeinem weiblichen nichtschwangeren oder bei einem männlichen Patienten sich eine positive DOR zeigte. Mit andern Worten: Fehlresultate sind keine veröffentlicht worden.

4. Zunahme der DO-Werte im Verlaufe der Schwangerschaft.

5. Größere individuelle Schwankungen bei verschiedenen Frauen.

IV. Eigene Versuche.

1. Problemstellung.

Obige Ergebnisse veranlaßten mich,

1. die Methode III (Indigoprobe), nach welcher bis jetzt nur wenige Reaktionen angestellt wurden, nachzuprüfen und entsprechende Werte der DO zu finden;

2. nachzuforschen, ob die DOR nicht schon häufiger vor der 12. Schwangerschaftswoche positiv zu werden beginnt;

3. einen Einblick in den Verlauf des Anstieges der DO-Werte während der Gravidität zu erhalten. Nachdem fortlaufende Untersuchungen an ein und derselben Patientin nicht möglich waren — Nachteil der immer wieder notwendigen Venenpunktionen — wurden jene an geschwängerten Rattenweibchen gemacht.

2. Methodik.

Die Reaktionen wurden nach Methode III *(H_2O_2-Bestimmung* mittels *Indigo)* durchgeführt [45, 54].

Reagenzien:

1. *Phosphat-Pufferlösung:* m/15 Phosphatlösung = *„Puffer"* (Sörensen, p_H 7,2), hergestellt aus einem Gemisch von 7 Teilen sek. Natriumphosphatlösung (11,876 g ad 1000,0 aq. dest.) und 3 Teilen prim. Kaliumphosphatlösung (9,078 g ad 1000,0 aq. dest.). Kontrolle des p_H mittels Jonoskop des Seruminstituts Bern oder p_H-Papier „Lyphan".

2. *Indigodisulfat* (Firmen B. D. H., London und Merck, Darmstadt) = *„Indigo"*. Stammlösung hergestellt aus 20 mg ad 30,0 Puffer. Zum Gebrauche davon 5 ccm ad 7,5 ccm Puffer, jedesmal frisch!

3. *Cadaverin-dihydrochlorid* (Hoffmann-La Roche, Basel). Stammlösung hergestellt aus 175 mg ad 10,0 ccm Puffer = m/10 Lösung. Zum Gebrauche eine m/30 Lösung, jedesmal frisch bereitet durch Verdünnung mit Puffer.

4. *Octylalkohol* (Verhinderung von Bakterienwachstum u. Schäumen).

5. *Toluol* (Verhinderung von Bakterienwachstum).

6. *Trichloressigsäure* 5 %.

Durchführung der Reaktion.

1. *Blutentnahme:* 10 ccm durch Venenpunktion.

2. *Gewinnung und Vorbehandlung des Serums:* Es muß einem einfachen Reinigungsprozeß unterworfen werden, da nämlich mehrere Fermente samt den zugehörigen Substraten darin vorkommen, welche wie die DO 0_2 verbrauchen. Durch Dialyse können diese oxydablen Körper entfernt werden, sodaß der Sauerstoffverbrauch des Serums allein sehr gering ist. (Neuerdings schreibt *Zeller* [54], daß in den meisten Fällen eine Dialyse sich erübrigt; nur in den Frühstadien der Gravidität sollte sie durchgeführt werden, wo eine Entscheidung über den Ausfall schwieriger ist, um die Leerwerte möglichst niedrig zu halten.)

Centrifugieren des Blutes während 5—10 Minuten, Einfüllen des so erhaltenen Serums in einen *Cellophanschlauch,* unter Zusatz von 1 Tr. Toluol. Einlegen des Schlauches in ein Becherglas für die *Dialyse:* Während den ersten Stunden wird gegen Aq. dest. (5—6 Stunden), dann gegen Pufferlösung dialysiert. Je zweimal wechseln und jedesmal 1 Tr. Toluol in das Becherglas zufügen. Die Dialyse dauert 24 Stunden und wird im Eisschrank durchgeführt.

3. *Ansatz der Reaktionen:*

2 weithalsige Reagenzgläser
(ev. graduierte)

I	II
je 2 ccm Serum	
je 0,2 ccm Indigo *	
je 1 Tr. Octylalkohol	
0,2 ccm Cadaverin *	0,2 ccm Puffer
= Cadaverinversuch	= Leerversuch

1—2 Min. O_2 durchströmen lassen
zukorken

---

* Memento: Diese Lösung immer frisch herzustellen aus den Stammlösungen. Indigolösung zudem filtrieren.

4. Inkubation:

Die beiden Reagenzgläser werden nummeriert (I, II), während 24 Stunden in den Thermostat (38° C.) gestellt.

5. *Beurteilung der Reaktion nach 24 Stunden:*

Qualitativ: Entfärbung in Ansatz I: wenn Schwangerschaft vorliegt; keine Entfärbung, wenn keine Gravidität vorhanden ist.

Die Registrierung geschieht folgendermaßen: wenn kein Unterschied zwischen den beiden Proben (I und II) erkennbar ist oder wenn, was gelegentlich vorkommt, der Leerversuch (II) eine Spur heller als der Cadaverinversuch (I) ist, so wird ein Minuszeichen (negative Reaktion) geschrieben.

Ist eine leichte, aber deutliche, erkennbare Entfärbung des Cadaverinansatzes gegenüber dem Leerversuch festzustellen, so wird ein (+), bei stärkerer Abblassung werden zwei (++) und bei vollständiger Entfärbung drei (+++) Pluszeichen gesetzt. (Positive Reaktion.)

Soll die DOR quantitativ durchgeführt werden, so findet nun

6. *Enteiweißung* des inkubierten Serums mit 5 % Trichloressigsäure statt: Hinzufügen von 7,6 ccm, sodaß ein Gesamtvolumen von 10,0 ccm entsteht. Mehrmals gut durchschütteln, während 15 Minuten stehen lassen und dann *Filtration.*

7. *Quantitative Untersuchung* des klaren Filtrates im *Pulfrich-Photometer* der Firma C. Zeiss in Jena (früher Pulfrich-Stufenphotometer genannt). Beschreibung und Handhabung des Apparates siehe in den „Arbeitsvorschriften“ [35].

Schichtdicke (Küvette): 3 cm. Filter: S 61 (= No. 4). An der Meßtrommel wird die Extinktion „E“ abgelesen. (Ältere Apparate geben nur „D“, d. h. die Intensität der Lichtdurchlässigkeit der Lösung in % an. Anhand der entsprechenden Tabelle in den „Arbeitsvorschriften“ ist es möglich diese in „E“ umzurechnen.)

Die Unterscheidungsfähigkeit des Photometers ist nicht wesentlich größer als die des gewöhnlichen unbewaffneten Auges. Aber der Apparat erlaubt ein quantitatives Erfassen der Fermentreaktion.

Es muß berücksichtigt werden, daß auch im Leerversuch meistens ein Teil des Indigos oxydativ durch Nebenreaktionen zerstört wird. Diese Abnahme im Ansatz II wird ohne weiteres von der des Hauptversuches (I) subtrahiert. (Vgl. *Zeller* [54]).

Bei der Photometrierung wird ausschließlich die *Substitutionsmethode* angewendet. Es wird deshalb die abgelesene Extinktion „E“ um denjenigen Betrag vermindert, welcher der Extinktion der Küvette und des Trichloressigsäurefiltrates ohne Indigo entspricht. Für diesen setzen wir den Mittelwert der Extinktionen, die bei vollständiger Entfärbung des Indigos abgelesen werden (E_0).

Die Größe, die so aus dem Leerversuche ermittelt wird (E_L-E_0), ist der Bezugswert (100 %), auf welchen die Menge des im Cadaverinversuch noch vorhandenen Indigos (E_C-E_0) bezogen und in Prozenten ausgedrückt wird:

$$\left(\frac{E_C - E_0}{E_L - E_0} \cdot 100\,\%\right)$$

3. Eigene Versuche.

A. Nachprüfung der DOR mittels der Indigoprobe.

a) Seren von Männern und Nichtschwangeren: zwei Seren von Männern und sechs Seren von nicht schwangeren, an verschiedenen gynäkologischen Krankheiten (u. a. Carcinom der Vulva, glandulär cystische Hyperplasie) leidenden Frauen ergaben alle eine *negative* DOR, also keine Erhöhung der DO-Werte.

b) Seren von Schwangeren jenseits der 12. Woche: 15 Seren zeigten alle eine positive Zeller-Reaktion. Die gefundenen Werte schwanken zwischen 44 und 100 % Indigoverbrauch. Es ist ebenfalls eine Zunahme der DO-Werte im Verlaufe der Gravidität festzustellen. Zwei Seren von übertragener Schwangerschaft zeigten beide eine vollständige Entfärbung. In einem Falle von Nephropathie (3. Wochenbettstag) ist die Entfärbung auf 50 % zurückgegangen.

Zusammenfassend ergeben die vorliegenden Resultate eine *Übereinstimmung* der *DOR* mit der *klinischen Diagnose* in *100* % der Fälle.

c) Seren von Frühgraviditäten: 12 Seren kamen zur Untersuchung. Es handelte sich um Fälle der 5.—9. Woche, d. h. Ausbleiben der Periode um 1—5 Wochen. Fünfmal wurde die DOR *positiv* gefunden, in Übereinstimmung mit der AZR, und wo diese nicht angestellt wurde, mit dem klinischen Verlauf. Die Werte schwanken zwischen 10 und 79 % Indigoverbrauch. Sieben Seren ergaben eine *negative* Probe. Einmal in Übereinstimmung mit der AZR, einmal im Gegensatz dazu. In einem Falle der 9. Woche, der eine negative DOR aufwies, wurde die AZR erst 14 Tage später angesetzt und positiv gefunden. Die DOR war dann in der folgenden, also 12. Woche ebenfalls positiv.

In also nicht ganz der Hälfte der Fälle stellte sich die DOR als richtig heraus. In den negativen Fällen war der Zeitpunkt offenbar zu früh, so daß nicht von einem Fehlresultat, sondern eher von einem „noch nicht Ansprechen" der Probe die Rede sein kann.

Auffallend sind auch die in den vorliegenden Untersuchungen zu Tage getretenen starken Schwankungen der Werte. Andererseits ist es gelungen schon in den frühen Stadien der Gravidität (u. a. 6., 6½., und 7½. Woche) positive Resultate

zu erzielen, was nach einer Verbesserung der Methodik bestimmt noch mehr der Fall sein wird.

d) Aborte und ein Fall von Blasenmole: Insgesamt wurden 14 Seren untersucht. Sechs Fälle von Abortus imminens zeigen alle einen hohen Gehalt an DO, d. h. einen starken Indigoverbrauch. Während fünf dieser Schwangerschaften erhalten werden konnten, abortierte ein Fall, der am andern Tage schon eine negative DOR aufwies; die AZR hingegen war noch positiv!

Vier Fälle von Abortus incompletus zeigten dreimal eine negative und einmal eine schwach positive DOR. (Letztere bei einer Patientin der 7. Woche, die seit einem Tage blutete.)

Zwei Fälle von missed abortion: beim ersten Falle soll das Kind schon seit zwei Monaten tot gewesen sein (AZR negativ), während die DOR noch positiv war. Aus technischen Gründen wurde eine Nachkontrolle nicht mehr gemacht, so daß nun nicht gesagt werden kann, ob es sich um einen Versager handelt, oder ob ein anderer Grund für den positiven Ausfall verantwortlich ist. Im zweiten Falle Tod der Frucht vor drei Monaten: negative Indigoprobe.

Bei einem Falle von destruierender Blasenmole, war die DOR mäßig positiv, AZR positiv (quantitativer AZR: 30 000 ME-/Liter). Anamnese: Ausstoßung der Blase vor drei Monaten, seither Blutung.

Ein Fall von Abortus febrilis der 8. Woche wies bei positiver AZR eine negative DOR auf.

Tabellarische Zusammenstellung meiner Resultate:

Diagnose	Zahl der untersucht. Seren	Resultat der DOR		Richtigkeit der Resultate in %
		richtig	fraglich	
Männerblut Nichtschwangere	8	8	0	100
Schwangere jenseits 3. Monat	18	18	0	100
Frühschwangere 5.—9. Woche	12	5	7	42
Abort. imminens (später geheilt)	4	4	0	100
Abort. imminens (später abort.)	2	?	?	?
Abort. incompl.	1×−, 1×+ 4: 3×−, 1×+			
Abort. febril.	1: 1×−	?	?	?
Missed abort.	2: 1×−, 1×+			
Blasenmole	1	1		

B. Varianten der Versuchsanordnung.

In Fällen, wo genügend Blut ins Labor kam, wurden neben den Reaktionen auch Varianten der Versuchsanordnung geprüft:

1. Varianten der Serummenge: Bei Verwendung von 1 ccm (statt 2 ccm) wurden rundweg kleinere Indigo-Verbrauchszahlen festgestellt; allerdings nicht immer im Verhältnis von 1 : 2.

2. Varianten der Dialysendauer: In Fällen vorgerückter Gravidität konnten bei der Abkürzung der Dialyse auf 8 Stunden oder sogar bei Unterlassung derselben nur geringe Unterschiede gegenüber den normal dialysierten Seren festgestellt werden (analog *Zeller* [54]).

3. Varianten der Inkubationsdauer: Verminderung derselben auf 8 Stunden führte zur Herabsetzung des Indigoverbrauches auf zirka 1/3, d. h. die Reaktion verlief ungefähr proportional der Inkubationszeit.

C. Untersuchungen über den Anstieg der DO während der Gravidität.

Wie oben (Seite 105) erwähnt, versuchten *Wenner* und *v. Wattenwyl* den Anstieg der DO im Verlaufe der Gravidität und Geburt graphisch darzustellen. Da sie sich der Werte verschiedener Frauen für ihre Kurve bedienten, und diese auffallend starke Schwankungen im DO-Gehalt des Serums zeigten, kann diese „Kombinationskurve" nur von relativer Bedeutung sein, um so mehr, als man an individuelle Unterschiede denken muß.

Es lag daher nahe, ein und dieselbe Frau mehrmals im Verlaufe der Schwangerschaft zu verschiedenen Zeitpunkten auf ihren Gehalt an DO des Blutes zu untersuchen. Leider meldeten sich von den 6 Patientinnen, die in der Frühzeit ihrer Gravidität zum ersten Male punktiert wurden und für diese Untersuchungsreihe ausersehen waren nur deren drei wieder, und diese nur noch für eine Venenpunktion (Venenpunktion als Nachteil der DOR).

Dabei fand sich eine deutliche Vermehrung der DO bei der späteren Untersuchung. War schon bei der ersten Untersuchung ein hoher Gehalt an DO festgestellt worden, so war auch bei der zweiten ein starker Indigoverbrauch zu registrieren, während eine Patientin mit anfangs geringem Werte nur eine mäßige Vermehrung aufwies.

Der geringen Anzahl der Untersuchungen wegen wird auf eine Darstellung der Zahlenwerte verzichtet. *Sicher* ist auf alle Fälle ein *Ansteigen* des *DO-Fermentes* bei ein und derselben Frau im *Verlaufe* der *Schwangerschaft*.

Mangels Untersuchungsmaterials wurde nun im *Tierversuche* anhand einer größeren Versuchsreihe ein Einblick in

diese Verhältnisse gewonnen. Ich bediente mich der *Ratte,* und zwar aus folgenden Gründen:

1. sie diente schon *Zeller* als Objekt bei der DO-Bestimmung[43]. Er fand in der Leber dieses Nagers während der Schwangerschaft einen bedeutend erhöhten DO-Gehalt, gegenüber einer nicht graviden Ratte;

2. die Ratte läßt sich leicht schwängern;

3. diese Laboratoriumstiere sind leicht unter den gleichen Versuchsbedingungen zu halten (Ernährung, Rasse, Alter, Gewicht).

Da eine entsprechende Mikromethodik (quantitativ) noch nicht existiert, d. h. gebrauchsfertig ausgebaut ist, mußte das gesammelte Blut *eines* Tieres verwendet werden für einen Reaktionsansatz. Daraus folgt, daß ebenfalls eine Kombinationskurve aus den Werten verschiedener Tiere aufgestellt werden mußte.

Material:

Ich bediente mich geschlechtsreifer weiblicher (und zur Kontrolle auch männlicher) Ratten im Gewichte von durchschnittlich 100—120 g. Bis zur Deckung wurden die Weibchen mit Böcken in den gleichen Käfigen gehalten.

Berechnung der Schwangerschaftsdauer: Täglich wurden mit der Platinöse Vaginalabstriche gemacht und auf dem Objektträger gefärbt und so der Zustand des Genitalcyclus untersucht. Begattung und anschließende Befruchtung erfolgt nur, wenn sich das Weibchen gerade in der Brunst (Oestrus, Schollenstadium) befindet.

Erster Tag der Schwangerschaft war jener Tag, an welchem Spermien im Vaginalabstrich, vermischt mit reichlich Schollen, gefunden wurden. Am 22. Tage erfolgte die Geburt (vgl. auch *Tapfer*[28]). So ließ sich jeder gewünschte Schwangerschaftstag, an welchem das Serum auf die DO zu untersuchen war, vorausbestimmen.

Blutentnahme:

Von vorneherein war klar, daß ich mit einer kleinen Blutmenge auskommen mußte. Bei Annahme derselben als $^1/_{13}$ des Körpergewichtes, und wovon nochmals die Hälfte als Depotblut nicht in Frage kam für die Reaktionen, konnte ich höchstens auf zirka 4 ccm rechnen, was etwas mehr als 2 ccm Serum gab. Es galt also jeden Bluttropfen soweit erhältlich aufzufangen.

Auf einem eigens hiefür improvisierten Operationstische wurde das in einem Glasgefäß mit ein paar Tropfen Äther vornarkotisierte Tier auf den Rücken gelegt und die 4 Extremitäten fixiert. Weiterfahren mit der Narkose. (Cave Überdosierung und Narkosetod!)

Mittels eines parasternalen Hautschnittes auf der rechten Thoraxseite wurde eine subkutane dreieckige Tasche der Haut präpariert, deren

mediale Wand durch den Thorax, die laterale und die kaudale durch die abgehobene Haut gebildet wurde. Kraniale Begrenzung: M. pectoralis. Durchtrennung desselben, vorsichtiges Beiseiteschieben des proximalen und distalen Muskelanteiles. Anschneiden der erscheinenden Vasa subclavia: das hellrote arterielle und dunkle venöse Blut spritzt, bzw. sickert in die Hauttasche, wo es mittels Recordspritze aufgesaugt werden kann. Entleerung des Blutes in ein bereitgehaltenes kleines Centrifugengläschen. Durch die allmählich erlahmende Herzarbeit wird fast alles zirkulierende Blut aus dem Körper herausgepumpt, sodaß das Tier ad exitum kommt. (Also wichtig, daß der Tod nicht schon durch die Narkose eintritt.)

Anschließend Eröffnung von Thorax und Abdomen: Punktion des restlichen Blutes aus dem Herzen, aus den beiden Hohlvenen wie auch aus den Vv. spermaticae, die strotzend mit Blut gefüllt sind. Durch diese Methode gelingt es sozusagen alles zirkulierende Blut zu erfassen, ohne daß ein Tropfen verloren geht.

Ausführung der DO-Reaktionen:

Technik analog den Versuchen mit Menschenblut. Da aber weniger als 4 ccm Serum zur Verfügung standen, folglich nicht zweimal 2 ccm angesetzt werden konnten, führte ich die Reaktionen mit den halben Mengen durch (1,0 ccm Serum, 0,1 ccm Indigo und 0,1 ccm Cadaverin bzw. Puffer). Zur Enteiweißung wurden 8,8 ccm Trichloressigsäure zugefügt, sodaß letzten Endes wieder 10,0 ccm für die Photometrierung entstanden, welche trotz der geringen Serummenge den Gebrauch der großen Küvette (3 cm Schichtdicke) erlaubten.

Ich stellte zwei Versuchsreihen an: eine im Herbst mit 22, die zweite im Frühjahr mit 12 geschwängerten Weibchen. Daneben eine Anzahl von Reaktionen mit Blut von Böcken und sicher nicht schwangern Rattenweibchen zur Kontrolle.

Ergebnis der Versuche mit Rattenblut: (siehe Kurven 2 und 3)

Wenn auch die Zahl der untersuchten Seren nicht besonders groß ist, so lassen sich doch folgende Ergebnisse feststellen:

1. Männchen und nicht schwangere Weibchen zeigen keinen vermehrten DO-Gehalt im Blutserum.

2. Bei den schwangeren Weibchen ist eine deutliche Vermehrung der DO nachzuweisen.

3. Deren Wert nimmt im Verlaufe der Gravidität zu.

4. Es dauert eine gewisse Zeit bis die DOR positiv zu werden beginnt: 7 Tage = zirka 1/3 Tragzeit.

5. Auch bei den Reaktionen mit Rattenblut finden sich „individuelle" Schwankungen des Indigoverbrauches.

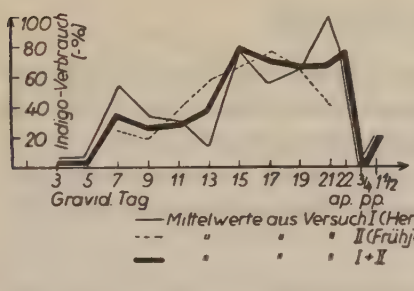
6. Abflachung der Kurve im dritten Viertel der Gravidität.

7. Starker Abfall der DO-Werte post partum (starkes Negativwerden).

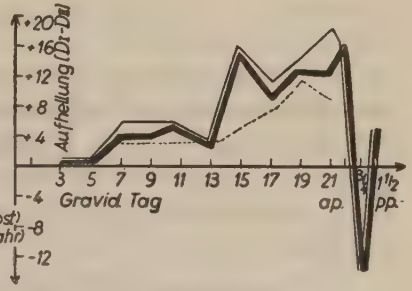
8. Scheinbare Abnahme der DO ante partum.

9. In der Versuchsreihe II (Frühjahr) sind die Zahlenwerte durchwegs etwas geringer als in der Reihe I.

Es läßt sich also zusammenfassend sagen, daß wir bei der Ratte ähnliche Verhältnisse vor uns haben im Verlaufe der DO-Kurve während der Schwangerschaft wie beim Menschen (vergleiche Kurve 1).



Kurve 2.



Kurve 3.

„Indigoverbrauch" = % = Maß für DO-Wirkung.
„Aufhellung" = Entfärbung in Ansatz I (DO-Wirkung) entsprechend $D_I - D_{II}$, wobei
D_I = Intensität der Lichtdurchlässigkeit in I,
D_{II} = Intensität der Lichtdurchlässigkeit in II (vergl. S. 105).
„ap" = ante partum; „pp" = post partum.

Schlußfolgerungen.

Die von *Zeller* entdeckte *Diamin-Oxydase* (DO), welche mit der Histaminase identisch ist, scheint eine bedeutende Rolle im Basenstoffwechsel zu spielen. Sie ist während der Gravidität stark vermehrt, so daß deren Nachweis im Serum als chemische Schwangerschaftsreaktion dienen kann.

Die *Diamin-Oxydase-Reaktion* ist als *Schwangerschaftsprobe* für *alle Fälle jenseits der 12. Woche eindeutig und* sicher.

Der Nachteil, daß die Reaktion im ersten Viertel der Gravidität noch nicht in allen Fällen positiv ausfällt, also noch nicht anspricht, ist entweder stoffwechselchemisch zu erklären, indem die DO erst einige Zeit nach Beginn der Schwangerschaft vermehrt auftritt, — oder aber es liegt an der Methodik der DOR. Falls letzteres zutreffen sollte, kann man mit dem Ausbau derselben rechnen, daß die DOR mit noch mehr Erfolg mit der AZR in Konkurrenz treten kann. Dies um so mehr, als sie uns unabhängig vom Tierversuch macht.

Vorderhand gewährt sie uns interessante Einblicke in das Stoffwechselgeschehen während der Schwangerschaft, wie wohl auch in dieser Hinsicht noch vieles ungeklärt bleibt.

V. Zusammenfassung.

1. Es wird eingangs dieser Arbeit auf die Schwangerschaftsdiagnose, und besonders auf den frühzeitigen Nachweis des keimenden Lebens eingegangen, welcher mittels zweier Methoden möglich ist: einerseits durch Untersuchung der Frau, andererseits objektiv, durch biologisch-chemische Reaktionen.

2. Beschreibung der charakteristischen Eigenschaften und des Vorkommens des Fermentes Diamin-Oxydase (DO), welches während der Schwangerschaft im Blute vermehrt auftritt und so die Diagnose einer Gravidität ermöglicht. (Diamin-Oxydase-Reaktion, DOR, von *Zeller*.)

3. Mitteilung der bisherigen Ergebnisse in der Literatur.

4. Nach Beschreibung der Methode III der DO-Messung — Nachweis und Bestimmung des bei der Reaktion entstehenden H_2O_2 mittels Indigodisulfonatentfärbung — werden die eigenen Resultate angeführt:

Bei Männern und Nichtschwangeren verläuft die DOR immer negativ, d. h. die DO ist nicht vermehrt.

Bei Schwangeren jenseits der 10.—12. Woche ist der DO-Nachweis im Serum immer positiv.

In den frühen Stadien (bis zur 10.—12. Woche) ist die DOR nicht in allen Fällen eindeutig. Nur in zirka zwei Fünftel der Fälle konnte bei bestehender Gravidität eine positive DOR festgestellt werden.

Bei Aborten gleiches Verhältnis in bezug auf das Alter der Gravidität. Auffallend frühzeitiger und sehr stark positiver Ausfall der Reaktion bei Abortus imminens.

Zunahme der DO-Werte im Verlaufe der Schwangerschaft findet sich auch in den beschriebenen Versuchen.

Anhand zweier Versuchsreihen an geschwängerten Ratten wird auch bei diesen Tieren eine Vermehrung der DO als Ausdruck der Gravidität gefunden. Deren Zunahme im Verlaufe der Tragzeit wird graphisch dargestellt, ebenfalls der rasche Abfall post partum.

Summary.

After a short review of the biological and chemical pregnancy-tests, the Diamino-Oxydase Reaction (DOR) by *Zeller* will be explained. It is evident that the reaction can be used only for pregnancies after the twelfth week, while it is uncertain in the early pregnancy.

Experiments with pregnant rats show that an augmentation of the Diamino-Oxydase (DO) occurs during the pregnancy and a rapid decline in the post partum time. Curves illustrate the results of the experiments.

Résumé.

On revient rapidement sur les différentes réactions biologiques et chimiques de la grossesse, puis il est question de la réaction Diamine-Oxydase de *Zeller* (DOR), dont on vérifie les résultats.

Il résulte de ce contrôle que cette réaction ne donne des résultats valables que pour les grossesses de 12 semaines au moins, mais qu'elle n'est pas sûre quand il s'agit de grossesses moins avancées.

En s'adressant à deux séries de rattes gravides, comme animaux d'expérience, on trouva également chez ces animaux une augmentation de la Diamine-Oxydase (DO), accompagnant la grossesse. La quantité de DO augmente au cours de la grossesse, ce qui a pu être représenté graphiquement, de même que sa brusque diminution dans le post-partum.

Riassunto.

Dopo brevi osservazioni sulle reazioni chimico-biologiche nella gravidanza, viene spiegata la reazione della Diamin-Oxydase (DOR) secondo *Zeller* e vien communicato il risultato di un controllo.

Da ciò risulta con evidenza che la reazione dà risultati sicuri solo al di là della dodicesima settimana di gravidanza, mentre il risultato è incerto per gravidanze prima di questo termine.

In base a ricerche sperimentali su ratte gravide, viene riscontrato che l'aumento della Diamin-Oxydase (DO) è da considerare come espressione di gravidanza. Tale aumento viene rappresentato graficamente durante il tempo della portata, così pure la sua rapida caduta dopo il parto.

Literaturverzeichnis.

[1] *Abderhalden, E.:* Hoppe-Seylers Zs. physiol. Chemie *77,* 249 (1912). — [2] *Albers, H.:* Geburtsh. u. Frauenhk. *3,* 165 (1941). — [3] *Derselbe:* Geburtsh. *u.* Frauenhk. *3,* 170 (1941). — [4] *Aschheim, S.:* Die Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn, Berlin (1933). — [5] *Diepgen, P.,* in Stoeckel, W.: Hdb. Gyn. XII/1 München (1937). — [6] *Engler, O.:* Diss., Zürich (1938). — [7] *Fekete, A.:* Die Funktion der weiblichen Geschlechtsorgane und ihre Beziehung zum Gesamtorganismus, Berlin (1930). — [7a] *Fontana, G.:* La Ginecologia, 605 (1941). — [8] *Fraenkel, L.:* Normale und pathologische Sexualphysiologie des Weibes, Leipzig (1914). — [9] *Franqué, O.:* Med. Klin. No. 29 (1932). — [10] *Granzow, J.:* Früh- und Fehldiagnosen bei der Extrauteringravidität, in Sammlg. Früh- und Fehldiagnosen, Leipzig (1936). — [11] *Guex, R.:* Diss. Zürich (1938). — [12] *Joël, Ch.:* Studien am menschlichen Sperma, Basel (1942). — [13] *Kapeller-Adler, R.:* Klin. Wschr. No. 21 (1934). — [14] *Dieselbe:* Biochem. Journal *35,* 213 (1941). — [15] *Kapeller-Adler* und *Adler, E.:* Proceedings of the Biochem Soc. Biochem. Journ. *36,* No. 3/4 (1942). — [16] *Kehrer, E.:* Zs. pract. Ärzte, No. 9 (1898). — [17] *Kleinwächter, L.* in Müller, P.: Hdb. Gebh. Bd. I, Stuttgart (1888). — [18] *Labhardt, A.:* Centralbl. Gyn. No. 29 (1914). — [19] *Derselbe:* Mschr. Gebh. Gyn. *112,* 1 (1941). — [20] *Marcou, I.:* Bull. Acad. Méd. Roumanie, *2,* 26 (1937). — [21] *Robert, P.* u. *Zeller, E. A.:* Schw. med. Wschr. *71,* 1605 (1941). — [22] *Rueff, J.:* Ein schön lustig Trostbüchle von den empfangknussen und geburt des menschen, Zürich (1534). — [23] *Runge, H.:* in Brugsch-Schittenhelm, Klinische Laboratoriumstechnik, IV. Band, Berlin-Wien 1929. — [24] *Sarwey, O.:* Centralbl. Gyn. 28, No. 51 (1904). — [25] *Derselbe:* Centralbl. Gyn. *28,* No. 39 (1904). — [26] *Scoti, M.:* in Albertus Magnus: von den Geheimnissen derer Weiber, Nürnberg (1678). — [27] *Soskin, S., Wachtel, H., Hechter, O.:* J. Amer. Med. Ass. *114,* 2090 (1940). — [28] *Tapfer, S.:* in Seitz-Amreich, Biol. u. Path. d. Weibes, Bd. I, 63,

Berlin-Wien (1941). — [29] *Tasch, H.:* Arch. Gyn. *171,* Heft 3 (1942). — [30] *Tschopp, W.* u. *Tschopp, H.:* Biochem. Zs. *298,* 206 (1938). — [31] *Veit, J.:* in Müller, P. Hdb. Gebh., Stuttgart (1888). — [32] *Wattenwyl, H.* von: Schw. med. Wschr. *72,* 637 (1942). — [33] *Werle, E.* u. *Effkemann, G.:* Klin. Wschr. *19,* 717 (1940). — [34] *Wenner, R.* u. *Wattenwyl, H.* von: Verh. Ver. Schweiz. Physiol., Januar (1941). — [35] *Zeiß, C.:* Klinische Kolorimetrie mit dem Pulfrich-Photometer, Jena (1940). — [36] *Zeller, E. A.:* Helv. Chim. Act. *21,* 880 (1938). — [37] *Derselbe:* Helv. Chim. Act. *21,* 1645 (1938). — [38] *Derselbe* u. *Mitarbeiter:* Helv. Chim. Act. *22,* 837 (1939). — [39] *Derselbe:* Helv. Chim. Act. *22,* 1381 (1939). — [40] *Derselbe:* Verh. Ver. Schweiz. Physiol., Februar (1939). — [41] *Derselbe* u. *Mitarbeiter:* Helv. Chim. Act. *23,* 3 (1940). — [43] *Derselbe:* Helv. Chim. Act. *23,* 1418 (1940). — [43] *Derselbe:* Helv. Chim. Act. *23,* 1502 (1940). — [44] *Derselbe:* Verh. Ver. Schweiz. Physiol., Juni (1940). — [45] *Derselbe* u. Mitarbeiter: Schw. Med. Wschr. *70,* 975 (1940). — [46] *Derselbe:* Helv. Chim. Act. *23,* 1509 (1940). — [47] *Derselbe:* Verh. Ver. Schweiz. Physiol.: Januar (1941). — [48] *Derselbe:* siehe No. [47]. — [49] *Derselbe:* Helv. Chim. Act. *24,* 117 (1941). — [50] *Derselbe:* Helv. Chim. Act. *24,* 539 (1941). — [51] *Derselbe:* Klin. Wschr. *20,* 220 (1941). — [52] *Derselbe:* Schw. med. Wschr. *71,* 293 (1941). — [53] *Derselbe:* Helv. Med. Act. No. 2 (1941). — [54] *Derselbe:* Schw. med. Wschr. *71,* 1349 (1941).

Allen, die mir bei meinen Untersuchungen mit Rat und Tat beigestanden haben, sei an dieser Stelle herzlich gedankt; vorab meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. *A. Labhardt,* sr. Zt. Direktor des Basler Frauenspitals, für die Überlassung des klinischen Materials, seinem Nachfolger, Herrn Prof. Dr. *Th. Koller,* sowie Herrn Prof. Dr. *S. Edlbacher,* Vorsteher des physiologisch-chemischen Instituts der Universität Basel, für die freundliche Durchsicht dieser Arbeit.

Besonders aber danke ich Herrn PD. Dr. *R. Wenner,* I. Oberarzt der Klinik, für die Anregung zu vorliegender Arbeit und sein stetes Interesse während deren Durchführung, sowie Herrn PD. Dr. *E. A. Zeller,* ehem. I. Assistent des physiologisch-chemischen Instituts Basel, für seine wertvollen Ratschläge in technischer Hinsicht.